Duplicate

Aus der Universitäts-Kinderklinik zu Greifswald.
Direktor: Professor Dr. Rudolf Degkwitz.

JUN - 2 1931

Über die Wirkung grenzflächenaktiver Lipoide im Öl-Wasser Modell

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Universität Greifswald

vorgelegt von

Gilbert Fernbacher
aus Freital, Bez. Dresden.

1931

Buchdruckerei Hans Adler, Inh.: E. Panzig & Co., Greifswald

Eingereicht im Oktober 1931.

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Greifswald.

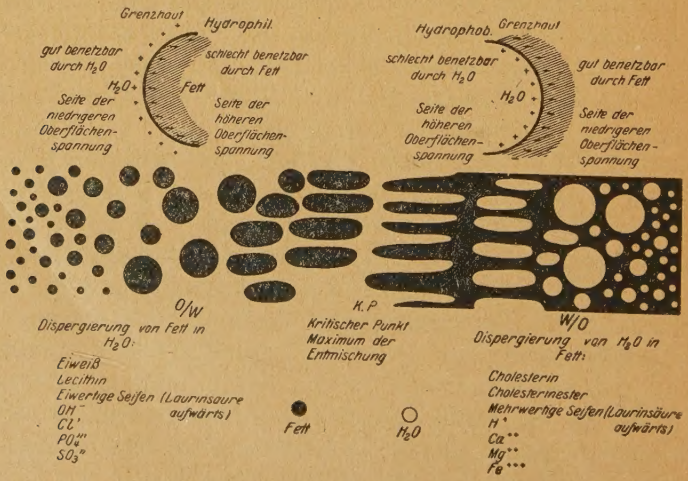
Dekan: Professor Dr. Proell.
Referent: Professor Dr. Degkwitz.

Die von *Bamberger* und *Degkwitz* begonnenen Untersuchungen über die Frage nach der diätetischen Minderwertigkeit artfremden Fettes für den raschwachsenden Säugling hatten von quantitativen und qualitativen strukturchemischen Untersuchungen zu physikalisch-chemischen Fragestellungen geführt[1]). Die beiden Autoren hatten gefunden, daß nicht nur nach längerem Hunger und einem Extremangebot, wie das *Rosenfeld* beobachtete, die Depotfette von Tieren Eigenschaften der Futterfette aufwiesen, sondern daß bei raschwachsenden, mit normalen Nährgemischen, aber mit verschiedenen Fetten ernährten Tieren nicht nur in den Depots, sondern auch in den Zellen das an Glycerin oder Lipoide gebundene oder frei in den Zellen enthaltene Fettsäuregemisch deutliche Züge des jeweiligen Nahrungsfettes trug und daß Tiere mit Extremzahlen in ihren Fettsäurewerten ein besonders schlechtes Gedeihen zeigten. Über die prinzipielle Feststellung hinaus, daß der Fettschaden nicht, wie bisher angenommen wurde, einseitig im Darm angreifen muß, sondern sich auch primär in übergeordneten Geweben manifestieren kann, mußte nun die weitere Frage nach der Bedeutung verschiedener Fettsäuremengen in den Geweben, der Anstauung besonderer Futter-Fettsäure-Gruppen in ihnen und den Beziehugen zwischen diesen Erscheinungen und normalem und anormalem Wachstum der Tiere erhoben werden.

Bevor dieses Problem experimentell in Angriff genommen wurde, begannen *Degkwitz* und *Spranger* Untersuchungen über die Faktoren, die im Protoplasma die Zustandsformen des Fettes bestimmen. Der Anteil des Neutralfettes an der Zell-Trocken-Substanz ist ein hoher, wie die Befunde von *Aaron* und *Sralka, L. Pinkussen, Fürth* und *Wohlgemut*[2]) zeigen. Es enthalten an Neutralfett: die Trockensubstanz von Muskeln 5—35%, der Leber 10—70%, der Milz 10—15%, der Lunge 10—12%, der Hirnschädelknochen 10%, des Atlas 5%, der Röhrenknochen 25—27%. *Degkwitz* sagte sich, daß quantitativ-chemische Untersuchungen über die oben umrissenen Fragestellungen erst Aussicht auf Erfolg haben könnten, wenn die Frage nach den die jeweilige Zustandsform des Neutralfettes bestimmenden Faktoren einigermaßen geklärt wäre. Bei dem hohen Anteil des Neutralfettes am Zellvolumen muß seine Zustandsform für die der anderen Zellbestandteile und damit für die Zellfunktionen von großer Bedeutung sein. Bei quantitativ und qualitativ gleichen Fettmengen in verschiedenen Geweben konnte ihr Einfluß auf die Gewebsfunktionen und das Gedeihen eines Tieres ganz verschieden sein, weil sich die quantitativ und qualitativ gleichen Fettmengen in verschiedenen Zustandsformen befinden.

Die erste Untersuchung über die Frage nach der Zustandsform des Neutralfettes im Protoplasma und die seine Zustandsform bedingenden Faktoren oder, allgemeiner gefaßt, über die Grundfrage, wie die Mischung in vitro wasserlöslicher und -unlöslicher, als Zellbausteine bekannter Stoffe im Protoplasmaverband vor sich geht, wurde auf *Degkwitz'* Veranlassung von *Spranger*[3]) ausgeführt. Der Versuchsplan war der folgende: Es sollte zunächst am einfachen Modell untersucht werden, wie bekannte Zellbausteine auf die Verteilung von Fett und Wasser ineinander einwirken. Nachdem genügend Klarheit über die Grundprinzipien dieser Reaktionen geschaffen war, sollte versucht werden, mit den auf die Verteilung der beiden Phasen am wirksamst erkannten Stoffen in Zellen Reaktionen hervorzurufen und zu untersuchen, ob etwaige Zellreaktionen auf Veränderungen in der Verteilung von Fett und Wasser im Protoplasma zurückgeführt werden müssen. Als wirsamste Stoffe für die Art und den Umfang der Aufteilung von Fett und Wasser ineinander hatten sich im Modellversuch die Zellkolloide und unter ihnen die Lipoide erwiesen. Die Wirkung der Zellkolloide auf Art und Umfang der Verteilung der beiden Phasen ineinander konnte durch Ionenwirkung verstärkt oder abgeschwächt werden.

Die Wirkung von Kolloiden und Elektrolyten auf das Öl-Wasser-Modell wurde von Degkwitz auf Grund veröffentlichter und unveröffentlichter Versuche durch das folgende Schema darstellt, in dem für einen bestimmten Stoff jeder andere der gleichen Rubrik als Synergist und jeder andere der anderen Rubrik als Antagonist auftritt.



Für den Nachweis, daß die Verteilung von Fett und Wasser ineinander im lebenden Protoplasma den gleichen Gesetzen gehorcht

wie in dem obenstehenden Modell, stellte *Degkwitz* vier Forderungen auf:

1. Es mußte gelingen, mit zelleigenen Einzellipoiden in physiologischen Konzentrationen an lebenden Zellen gesetzmäßige Reaktionen hervorzurufen;

2. Solche sicher zu erwartenden Reaktionen mußten mit physikalisch-antagonistisch gerichteten Kolloiden ohne Rücksicht auf deren chemische Beschaffenheit verhütet werden können.

3. Es mußten sich auch am lebenden Protoplasma Interferenzen zwischen Kolloid- und Ionenwirkungen, wie in dem obigen Schema, auffinden lassen.

4. Wenn auch den Forderungen 1—3 genügt werden konnte, so mußte darüber hinaus noch der Beweis geführt werden, daß sich an lebenden Zellen auch die Folgezustände der aus dem obigen Modell ersichtlichen Kolloid-Ionen-Synergismen und Antagonismen, nämlich entsprechende Permeabilitätsveränderungen, nachweisen ließen.

Eine Dispersion von Fett in Wasser, gleichgültig wie hoch die Konzentration der inneren Phase ist, leitet den elektrischen Strom und ist mit Wasser verdünnbar (d. h. wasserpermeabel), während eine Dispersion von Wasser in Fett, gleichgültig wie hoch die Konzentration der dispersen wässerigen Phase ist, den elektrischen Strom nicht leitet, nur mit Fett verdünnbar und wasserimpermeabel ist. *Degkwitz* und *Spranger* konnten an verschiedenen Objekten und mit verschiedenen Methoden den Nachweis führen, daß die Struktur des lebenden Protoplasmas von den im obigen Schema aufgezeigten Faktoren abhängt und Funktionsänderungen am einfachsten mit Strukturveränderungen im obigen Sinne erklärt werden können. Damit war eine Basis gewonnen, von der aus weiter nach der Bedeutung der in dem oben gezeichneten einfachen Modell und Schema sichtbaren elektrischen und mechanischen Kräfte für den Lebensablauf geforscht werden konnte. (siehe dazu Degkwitz, Lipoid-Antagonismen)[4]).

Meine Aufgabe in der beschriebenen Versuchsreihe war, nach quantitativen Momenten sowohl innerhalb der gleichen Rubrik des obigen Schemas als durch Vergleiche der verschiedenen antagonistischen Wirkungen in verschiedenen Rubriken stehenden Kolloide zu suchen. Ich sollte versuchen, die O/W emulgatorischen Eigenschaften der verschiedenen hydrophilen Kolloide zu klassifizieren, das Gleiche mit den hydrophoben tun und feststellen, welches Kolloid, gegen ein bestimmtes der anderen Klasse ausgespielt, die stärksten antagonistischen Eigenschaften entfaltet.

Spranger hatte auf diesem Gebiet schon Vorarbeiten geleistet und mit dem Ostwald'schen Viskosimeter geprüft, wie einzelne Lipoide die Viskosität eines Ringer-Albumin-Triolein-Modells (Blut-

Serum-Modell) verändern. Man vergleiche dazu auch die erste A
beit von *Degkwitz* und *Zoelch*[5]). Ceteris paribus hängt der Visk
sitätsgrad dieses Modells von der Dispersität der inneren Phase a
Die emulgatorischen Fähigkeiten verschiedener Lipoide konnten m
diesem Modell an dem Grade der von ihnen hervorgerufenen Visk
sitätsänderungen nach der Zufuhr gleicher Mengen mechanisch
Energie bestimmt werden. O/W-Emulgatoren mußten die Dispersit
des Neutralfettes und damit die Viskosität steigern, W/O-Emulgatore
dagegen beide vermindern. Aus den Versuchen von *Clowes*[6]) gin
hervor, daß die völlige Entmischung eines Öl-Wasser-Gemisches m
Seifen als Emulgatoren bei der Gegenwart äquivalenter Mengen ei
und mehrwertiger Seifen, d. h. bei äquivalenten Mengen verschiede
gerichteter Emulgatoren eintritt und daß ceteris paribus auch die
seits und jenseits des kritischen Punktes der Umfang der disperse
Phase bei Gegenwart verschieden gerichteter Emulgatoren als Au
druck eines dynamischen Gleichgewichtes ihrer verschieden gerich
teter Grenzflächenkräfte betrachtet werden muß. Nach *Spranger*
Untersuchungen lautet die Größenreihe physiologisch in Betracht kom
mender O/W-Emulgatoren in seinem Blut-Serum-Modell folgende
maßen:

Lecithin > Albumin > Natrium-Oleat.

Der W/O-Emulgatoren:

Cholesterin-Ester > Cholesterin.

Besonders auffallend war bei den *Spranger*'schen Befunden, da
eine Kombination von Lecithin und Albumin sich als ganz besonder
wirksamer und über eine Additivwirkung hinausgehender O/W-Emul
gator erwies. In ganz paradox erscheinender Weise zeigte sic
nun die besonders gute O/W-Kombination Eiweiß + Lecithin nich
als besonders guter Antagonist des W/O Emulgators Cholesterin; ir
Gegenteil, die entmischende Cholesterinwirkung, die in Gegenwart vo
Albumin ausblieb und sich sogar in ihr Gegenteil umkehrte, wurd
erst sichtbar, wenn Lecithin in die Reaktionen eingeführt wurde.

A

Ringer	+ 5% Albumin	. . . . .		W = 1,2
„	+ 5% „	+ 0,025% Lecithin	. . . . .	W = 1,2
„	+ 5% „	+ 0,050% „	. . . . .	W = 1,2
„	+ 5% „	+ 0,075% „	. . . . .	W = 1,2
„	+ 5% „	. . . . .		W = 1,2
„	+ 5% „	+ 0,05% Na-Oleat	. . . . .	W = 1,2
„	+ 5% „	+ 0,15% „ „	. . . . .	W = 1,2

B

Ringer	+ 5%	Albumin	+ 0,05%	Triolein	. . . . .		W =	1,26
„	+ 5%	„	+ 0,05%	„	+ 0,025%	Lecithin .	W +	1,41
„	+ 5%	„	+ 0,05%	„	+ 0,050%	„ .	W =	1,49
„	+ 5%	„	+ 0,05%	„	+ 0,075%	„ .	W =	1,55
„	+ 5%	„	+ 0,05%	„	. . . . .		W =	1,26
„	+ 5%	„	+ 0,05%	„	+ 0,05%	Na-Oleat .	W =	1,27
„	+ 5%	„	+ 0,05%	„	+ 0,15%	„ „ .	W =	1,30

A

Ringer	+ 5%	Albumin	. . . . .				W =	1,20
„	+ 5%	„	+ 0,050%	Na-Oleat	. . . . .		W =	1,21
„	+ 5%	„	+ 0,004%	Ca-Oleat	. . . . .		W =	1,22
„	+ 5%	„	+ 0,020%	Cholesterinester	. . . .		W =	1,23
„	+ 5%	„	+ 0,050%	Cholesterinesterin	. . .		W =	1,23
„	+ 5%	„	+ 0,050%	Lecithin	. . . . .		W =	1,22
„	+ 5%	„	+ 0,050%	Lecithin	+ 0,05%	Cholester	W =	1,29

B

Ringer	+ 5%	Albumin	+ 0,5%	Triolein	. . . . .		W =	1,26
„	+ 5%	„	+ 0.5%	„	+ 0,05 %	Na-Oleat .	W =	1,27
„	+ 5%	„	+ 0,5%	„	+ 0,004%	Ca-Oleat .	W =	1,33
„	+ 5%	„	+ 0,5%	„	+ 0,020%	Cholesterinester	W =	1,33
„	+ 5%	„	+ 0,5%	„	+ 0,050%	Cholesterin	W =	1,42
„	+ 5%	„	+ 0,5%	„	+ 0,050%	Lecithin .	W =	1,44
„	+ 5%	„	+ 0,5%	„	+ 0,050%	„ + 0,05 % Cholesterin	W =	1,33
„	+ 5%	„	+ 0,5%	„	+ 0,050%	Lecithin + 0,05% Cholesterinpalmitatester	W =	1.26

Sprangers Untersuchungen sollten nun von mir mit anderen Methoden nachgeprüft werden. In einer Homogenisierungsmaschine der Firma Schröder-Lübeck wurde ein Ringer-Triolein-Gemisch mit den in der untenstehenden Tabelle angegebenen Zusätzen 20 Minuten lang in Stickstoffatmosphäre, um Oxydationserscheinungen zu vermeiden, bei 200 Atmosphären Druck homogenisiert, danach der Durchmesser von mindestens 2000 Fettmassenteilen mit dem Okular-Mikrometer ausgemessen, der mittlere Durchmesser bestimmt und aus der bekannten, in 100 ccm Gemisch enthaltenen Fettmenge und dem mitt-

W = Wasserwert der Viskosität.

leren Fettkugeldurchmesser die Zahl der Fettmassenteile und daraus der jeweilige Umfang der Grenzfläche Fett-Wasser berechnet.

Da ceteris paribus die Größe der einzelnen Fettmassenteile nach der Homogenisierung wenig differierte, erschien es erlaubt, den mittleren Durchmesser der dispersen Phase in der beschriebenen einfachen Weise zu errechnen. Gleiche Ausgangsgemische, gleich lange mit gleichem Druck homogenisiert, zeigten bei diesem Vorgehen geringe Streuungen der mittleren Durchmesser der dispersen Phase. Die Konzentration der dispersen Phase war so niedrig und ihre Dispersität eine so hohe, daß es nicht zu Deformationen, Abweichungen von der Kugelgestalt der Fettmassenteile kam. Daß die Angabe über den Umfang der Grenzflächen trotzdem nur Annäherungswerte sind, bedarf kaum eines Hinweises.

	Mittlerer Teilchendurchmesser	Grenzflächenumfang in 100 ccm Gemisch
Ringer + 0,01% Na-Oleat + 5% Triolein	2,8 μ	11,46 qm
„ + 5,00% Albumin + 5% „	2,1 „	15,90 „
„ + 0,75% Lecithin + 5% „	1,9 „	16,70 „
„ + 5,00% Albumin + 0,75% Lecithin + 5% Triolein	1,3 „	24,20 „

Der beschriebene Versuch bestätigt die *Spranger*'schen Befunde sowohl hinsichtlich der W/O-Emulgatoren Größenreihe Lecithin > Albumin > Natrium-Oleat als der Beobachtung über die besonders gute fettdispergierende Wirkung der Kombination Albumin und Lecithin.

Neben den oben erwähnten Vergleichen über die verschieden gute W/O-Emulgator-Wirkung von freiem und verestertem Cholesterin hatte *Spranger* noch in einer anderen Versuchsanordnung das emulgatorische Vermögen der beiden hydrophoben Kolloide nachgeprüft und zwar im einfachen Schüttelversuch und im Vergleich der Konsistenz des entstehenden Gemisches und einer Schätzung der von einem bekannten Gemischvolumen als W/O auftretenden Mengen[3]). Er war zu dem Schluß gekommen, daß verestertes Cholesterin ein besserer W/O Emulgator ist als freies.

Dieses Ergebnis wurde folgendermaßen nachgeprüft: Es wurde in 2 ccm reinstes, säurefreies Triolein bei gleichmäßigem, aber maximalem Rühren in einem sauberen Mörser aus einer Bürette aqua dest. oder Ringer-Lösung getropft. Das Wasser oder die Ringerlösung wurden bei allen Versuchen tropfenweise im gleichen Tempo eingetragen, nach jedem Zusatz der wässerigen Phase maximal gleich lang gerührt und mit dem Wasserzusatz solange fortgefahren, bis die Dis-

persion von Wasser oder Ringerlösung in Triolein brach und Wasser und Öl entmischt waren. Dieser Punkt ist bei gleichmäßiger Arbeit mit einer Fehlerquelle von 3—5% erfaßbar. Die Wasser-Öl-Emulsatoren waren im Öl gelöst.

H_2O

2 ccm	Triolein	nimmt auf		2,05 ccm	H_2O
2 „	„	(1% Cholesterin)	nimmt auf	4,90 „	„
2 „	„	(1% Cholesterinester)	„ „	3,50 „	„
2 „	„	(Ca-Oleat)	„ „	4,20 „	„

Ringerlösung

2 ccm	Triolein	nimmt auf		1,10 ccm	Ringer
2 „	„	(1% Cholesterin)	nimmt auf	3,75 „	„
2 „	„	(1% Cholesterinester)	„ „	2,55 „	„
2 „	„	(Ca-Oleat)	„ „	1,40 „	„

Aus den Zahlen geht hervor, daß Ca-Oleat, Cholesterin und Cholesterinester, die in vivo als Wasser-Öl-Emulsatoren in Frage kommen, weit über die Fehlergrenze der Methode hinausgehend, das Aufnahmevermögen von Neutralfett für Wasser und Ringerlösung steigern. Entgegen *Sprangers* Befunden zeigte sich aber mit einer zuverlässigeren Methode, daß in Gegenwart physiologischer Elektrolyt-Konzentrationen und -Kombinationen die Größenreihe der W/O-Emulgatoren folgendermaßen verläuft:

Cholesterin > Cholesterinester > Ca-Oleat.

Unterschiede zwischen Cholesterin-Oleat und -Palmitat bei gleichen Konzentrationen waren nicht aufzufinden.

Mit den beiden beschriebenen Methoden, der Homogenisierung und der Mörsermethode wurde nun *Sprangers* Befund über Kolloid-Antagonismen auf die Verteilung von Fett und Wasser nachgeprüft.

Die Homogenisierung geschah in der gleichen Weise wie oben, die Bestimmung des mittleren Teilchendurchmessers und des Grenzflächenumfangs ebenfalls.

p_H 7,20

	Mittlerer Teilchendurchmesser	Grenzflächenumfang in 100 ccm Gemisch
Ringer + 5% Albumin + 5% Triolein	2,1 μ	15,9 qm
„ + 5% „ + 5% „ (2% Cholesterin)	2,4 „	13,7 qm
„ + 5% „ + 5% „ (2% Cholesterinester)	2,3 „	14,2 qm
„ + 5% „ + 1% Lecithin + 5% Triolein	1,3 „	24,2 qm
„ + 5% „ + 1% „ + 5% Triolein (2% Cholesterin)	2,4 „	13,7 qm
„ + 5% „ + 1% „ + 5% Triolein (2% Cholester)	2,3 „	14,2 qm
„ + 5% „ + 1% „ + 5% Triolein (1,2% Cholester + 0,8% Cholesterin)	1,9 „	16,8 qm

1. Die Kombination Albumin und Lecithin erweist sich weitaus als der beste O/W-Emulgator. 2. Cholesterin und Cholesterinester verringern die Dispersität des Neutralfettes in einem Ringer-Albumin-Triolein-Modell. 3. Die an sich beste O/W-Emulgator-Kombination Albumin und Lecithin wirkt der Cholesterinwirkung nicht besonders stark entgegen. Die Colesterinwirkung ist so stark, daß, am Grenzflächenumfang gemessen, der Lecithineffekt völlig aufgehoben wird. Mit dieser Versuchsanordnung wurde auch noch ein anderer, bisher noch nicht erwähnter Befund von *Spranger* bestätigt, daß Cholesterin und Cholesterinester in Mengenverhältnissen, wie sie etwa im Blutserum vorliegen, in der Reaktion anwesend, ihre entmischende Wirkung aufheben[3]).

Erstaunlich ist, daß die entmischende Wirkung von Cholesterin gegenüber einer 60 fachen höheren Konzentration kolloidaler Antagonisten (5 g Albumin + 1 g Lecithin) und gegenüber den 200 Atmosphären dispergierenden mechanischen Druckes so stark zur Geltung kommt, daß der Grenzflächenumfang ceteris paribus durch die Cholesterinwirkung beinahe um die Hälfte, von 24,2 qm auf 13,7 qm gesenkt wird.

Es sollten nun auch mit der oben beschriebenen Mörsermethode die Sprangerschen Befunde und die oben beschriebenen über das antagonistische Spiel der Einzelkolloide nachgeprüft werden.

In den Versuchen waren die W/O-Emulsatoren in Fett gelöst und die wässerige Phase frei von ihnen. Die Öl-Wasser-Emulsatoren waren in der eintropfenden Ringerlösung enthalten. Folgende Befunde wurden erhoben:

2 ccm	Triolein	nehmen auf:	2,05 ccm	H_2O	
2 „	„ (1% Cholesterin)	„ „	4,90 „	„	
2 „	„ (1% „ Oleat)	„ „	3,50 „	„	
2 „	„	„ „	1,65 „	0,5% Lecithinlösg. in H_2O	
2 „	„ (1% Cholesterin)	„ „	4,00 „	0,5% Lecithinlösg. in H_2O	
2 „	„ (1% „ Oleat)	„ „	2,30 „	0,5% Lecithinlösg. in H_2O	
2 „	„	„ „	1,75 „	1% Albuminlösg. in H_2O	
2 „	„ (1% Cholesterin)	„ „	1,85 „	1% Albuminlösg. in H_2O	
2 „	„ (1% „ Oleat)	„ „	2,45 „	1% Albuminlösg. in H_2O	
2 „	„	„ „	1,50 „	$^1/_{500}$ Na-Oleat in H_2O	
2 „	„ (1% Cholesterin)	„ „	1,75 „	$^1/_{500}$ Na-Oleat in H_2O	
2 „	„ (1% „ Oleat)	„ „	2,25 „	$^1/_{500}$ Na-Oleat in H_2O	

Ringerlösung

2 ccm	Triolein	nehmen auf:	1,10 ccm	Ringerlösung
2 „	„ (1% Cholesterin)	„ „	3,75 „	„
2 „	„ (1% „ Oleat)	„ „	2,55 „	„
2 „	„	„ „	0,95 „	0,5% Lecithin-Ringerlösung
2 „	„ (1% Cholesterin)	„ „	4,55 „	0,5% Lecithin-Ringerlösung
2 „	„ (1% „ Oleat)	„ „	2,30 „	0,5% Lecithin-Ringerlösung
2 „	„	„ „	1,70 „	1% Albumin-Ringerlösung
2 „	„ (1% Cholesterin)	„ „	1,80 „	1% Albumin-Ringerlösung
2 „	„ (1% „ Oleat)	„ „	2,30 „	1% Albumin-Ringerlösung
2 „	„	„ „	1.80 „	$^1/_{500}$ Na-Oleat in Ringerlösung

2 „ „ (1% Cholesterin) „ „ 2,10 „ $^1/_{500}$ Na-Oleat in Ringerlösung

2 „ „ (1% „ Oleat) „ „ 2,50 „ $^1/_{500}$ Na-Oleat in Ringerlösung

In Größenreihen angeordnet gibt es das folgende Bild:

2 ccm Triolein nehmen auf: 2,05 ccm H_2O > 1,75 ccm 1% Albumin in H_2O > 1,65 ccm 0,5% Lecithin in H_2O > 1,50 ccm $^1/_{500}$ Na-Oleat in H_2O.

2 ccm Triolein nehmen auf: 1,80 ccm $^1/_{500}$ Na-Oleat in Ringerlösung > 1,70 ccm 1% Albumin in Ringerlösung > 1,10 ccm Ringerlösung > 0,95 ccm 0,5% Lecithin in Ringerlösung.

2 ccm Triolein	nehmen auf	2,05 ccm	H_2O		
2 „ „ (1% Cholesterin)	nehmen auf	4,90	„	„	
2 „ „ (1% Cholesterin-Oleat	„ „	3,50	„	„	
2 „ „	„ „	1,10	„	Ringerlösg.	
2 „ „ (1% Cholesterin)	„ „	3,75	„	„	„
2 „ „ (1% Cholesterin-Oleat	„ „	2,55	„	„	„

Öl-Wasser-Emulsatoren müssen die Kapazität des Trioleins für die innere wässerige Phase drücken. Sind sie in destilliertem Wasser gelöst, so ergibt die Höhe der Kapazitätserniedrigung die bekannte Öl-Wasser-Emulsatorengrößenreihe. Im Milieu der Ringerlösung ändert sich diese Größenreihe. Während Lecithin erwartungsgemäß, verglichen mit der Kapazität für reine Ringerlösung, als bester Öl-WasserEmulsator wirkt, erhöhen Albumin und Na-Oleat sogar das Aufnahmevermögen für die innere Phase. Für Na-Oleat ist das leicht verständlich, da es in Ringerlösungen teilweise in Ca-Oleat umgesetzt wird und auf diese Weise ein Wasser-Öl-Emulsator entsteht. Die Ursachen für das abweichende Verhalten des Albumins sind undurchsichtiger. Sein differentes Verhalten in destilliertem Wasser und in Ringerlösung weist deutlich auf eine Rolle der Elektrolyte hin.

Wird nun eine Öl-Wasser-Emulsatoren enthaltende Ringerlösung in Triolein eingetropft, in dem Wasser-Öl-Emulsatoren gelöst sind, bis die Wasser-Öl-Emulsion bricht, so ergeben sich folgende Reihen:

2 ccm Triolein (1% Cholesterin) nimmt auf: 4,55 ccm 0,5% Lecithin-Ringerlösung > 3,75 ccm Ringerlösung > 2,10 ccm $^1/_{500}$ Na-Oleat-Ringerlösung > 1,80 1% Albumin-Ringerlösung.

2 ccm Triolein (1% Cholesterin-Oleat) nimmt auf: 2,55 ccm Ringerlösung = 2,55 ccm $^1/_{500}$ Na-Oleat-Ringerlösung > 2,30 ccm 0,5 Lecithin-Ringerlösung = 2,30 ccm 1% Albumin-Ringerlösung.

Auch hier begegnet man der schon von *Spranger* beobachteten paradoxen Erscheinung, daß der an sich beste Öl-Wasser-Emulsator Lecithin die Wasser-Ölwirkung des freien Cholesterins besonders wirksam werden läßt, während sie Albumin und Na-Oleat drücken. Mit Cholesterin-Oleat zusammen reagiert Lecithin nicht wie mit freiem Cholesterin in dem Sinne, daß es die Aufnahmefähigkeit des Neutralfettes für Wasser steigert. Es ist hervorzuheben, daß die Cholesterinester-Wirkung wohl an sich bei der beschriebenen Versuchsanordnung geringer ist als die des freien, daß sie aber durch Öl-Wasser-Emulsatoren viel weniger beeinflußbar ist als die des freien Cholesterins.

Die kritischen Mengenverhältnisse zwischen Öl-Wasser- und Wasser-Öl-Emulsatoren in dem Ringerlösung-Trioleinmodell, bei denen unter den beschriebenen Versuchsbedingungen das Maximum der Entmischung besteht, sind folgende:

Lecithin : Cholesterin	=	1,1 : 1
Albumin : Cholesterin	=	0,9 : 1
Na-Oleat : Cholesterin	=	0,2 : 1
Lecithin : Cholesterinester	=	0,55 : 1
Albumin : Cholesterinester	=	0,15 : 1
Na-Oleat : Cholesterinester	=	0,25 : 1

Die Zahlen sind selbstverständlich nur Annäherungswerte und gelten außerdem nur für die beschriebene Versuchsanordnung. Sie geben auch keine Anhaltspunkte von der wirklichen Kapazität solcher Systeme für ihre innere Phase. Diese Kapazität hängt außerordentlich von der Technik der Emulsionsherstellung ab. Es mußte aus diesem Grunde und auch wegen der nicht allzu großen Genauigkeit der Mörsermethode noch auf einem anderen Wege versucht werden, die beiderseitigen Mengenverhältnisse festzulegen, bei denen antagonistische Emulsatoren ceteris paribus Öl-Wasser- oder Wasser-Öl-Emulsionen oder eine völlige Entmischung produzieren. Es wurde dazu in der gleichen Weise vorgegangen, wie es *Clowes* schon früher beschrieben hat. Gleiche Mengen von Fett und Wasser, im vorliegenden Falle gleiche Mengen von Ringerlösung und einem Fettgemisch, das 97% Triolein und 3% Tristearin enthielt, wurden in einem Rührwerk bei gleicher Umdrehungszahl gleich lange gerührt, nachdem der wässerigen Phase Öl-Wasser und der öligen Wasser-Öl-Emulsatoren zugesetzt waren. Mit der Färbemethode wurde dann die Art der endgültigen Aufteilung von Fett und Wasser ineinander bestimmt. Dieses wird folgendermaßen ausgeführt: Man bringt auf ein hochkonzentriertes Öl- und Wassergemisch unbekannter Aufteilungsart ein Körnchen fettlöslichen Farbstoff, z. B. Sudan III. Der Farbstoff wird

sich ausbreiten, wenn Fett die kontinuierliche und Wasser die disperse Phase ist.

Menge des Cholesterins in %	Menge des Albumins in Prozent.											
	8,0	5,0	2.5	1,25	0,65	0,2	0,65	1,25	2,50	5,0	8,0	10,0
							+ 0,05% Lecithin					
1%	Ö/W	Ö/W	Ö/W	Ö/W	Ö/W	KP	W/Ö	W/Ö	W/Ö	W/Ö	W/Ö	W/Ö
							+ 0,5% Lecithin					
1%							Ö/W	W/Ö	W/Ö	W/Ö	W/Ö	W/Ö
							+ 0,75% Lecithin					
1%							Ö/W	Ö/W	KP	W/Ö	W/Ö	W/Ö
							+ 0,05% Lecithin					
0,5%	Ö/W	Ö/W	Ö/W	Ö/W	Ö/W	KP	W/Ö	W/Ö	W/Ö	W/Ö	W/Ö	W/Ö

Menge des Cholesterinesters in %	Menge des Albumins in Prozent											
	8,0	5,0	2,5	1,25	0,65	0,2	0,55	1,25	2,50	5,0	8,0	10,0
							+ 0,05% Lecithin					
1% Cholesterin-Oleat	Ö/W	Ö/W	Ö/W	Ö/W	Ö/W	Ö/W	W/Ö	W/Ö	W/Ö	W/Ö	Ö/W	Ö/W
							+ 0,5% Lecithin					
1% Cholesterin-Oleat							Ö/W	Ö/W	Ö/W	W/Ö	Ö/W	Ö/W

Werden Albumin und Cholesterin in der oben beschriebenen Weise als Antagonisten für die Aufteilung von Neutralfett und Ringerlösung gegeneinander ausgespielt, so entstehen solange Öl-Wasser-Emulsionen, als auf einen Teil Albumin weniger als 5 Teile Cholesterin in der Reaktion anwesend sind. Der kritische Punkt liegt da, wo auf ein Gewichtsteil Albumin gerade 5 Teile Cholesterin treffen. Die Gegenwirkung von Cholesterinester gegen Albumin ist noch schwächer. Bei 5 Teilen Cholesterinester auf 1 Teil Albumin entsteht immer noch eine Öl-WasserEmulsion.

Nach diesen Versuchsergebnissen und den oben ausgeführten Mörserversuchen mußte es scheinen, als ob unter physiologischen Bedingungen, wo nicht das Cholesterin über das Eiweiß, sondern umgekehrt das Eiweiß über das Cholesterin überwiegt, eine Phasenumkehr nach dem hier beschriebenen Mechanismus unmöglich sei. Werden aber „physiologischere" Bedingungen hergestellt, wird gegen das Cholesterin nicht nur Albumin, sondern, wie es in vivo stets der Fall ist, neben dem Albumin auch Lecithin als Antagonist ausgespielt, so zeigt sich, daß Lecithinmengen, die bis zu $^1/_{160}$ der Eiweißmengen ausma

chen, „sensibilisierend“ in den Prozeß eingreifen und daß jetzt noch eine Wasser-Öl-Emulsion entsteht, wenn auf 16 Teile Albumin 1 Teil Cholesterin trifft. Damit wird die Möglichkeit von Phasenumkehrungen in Protoplasmagrenzschichten, in denen sich Lipoide wegen ihrer Grenzschichtenaktivität konzentrieren müssen, in den Bereich höchster Wahrscheinlichkeit gerückt.

Steigt die Lecithin-Konzentration an, so macht sich schließlich die Öl-Wasser-Wirkung des Lecithins geltend und es entstehen Öl-Wasser-Emulsionen, wo mit niedrigsten Lecithinkonzentrationen als Sensibilatoren Wasser-Öl-Emulsionen produziert wurden.

Wieder begegnet man einer Sonderreaktion der beiden Lipoide Lecithin und Cholesterin, wiederum ruft der wirksamste Öl-Wasser-Emulsator Lecithin ebenso wie in dem berichteten *Spranger*'schen Versuche die Wasser-Öl-Funktion des Cholesterins hervor. Wieder sind es zwei Lipoide, die gegenüber der hohen Eiweißkonzentration ausschlaggebend die Struktur des Gemisches beeinflussen.

Die mit ziemlicher Genauigkeit reproduzierbaren Umschlagspunkte gelten nur, wenn die Öl-Wasser-Emulsatoren in Ringerlösungen und nicht in destilliertem Wasser gelöst sind. Auch diese Erscheinung zeigt die Rolle der Elektrolyte für die Aufteilung von Fett und Wasser ineinander:

Cholesterin 1% + 2,5% Albumin in H_2O dest. O/W
„ 1% + 2,5% „ + 0,050% Lecithin in H_2O dest. Ö/W
„ 1% + 2,5% „ + 0,005% „ „ 0,8% NaCl Ö/W
„ 1% + 2,5% „ + 0,050% „ „ 0,04% $CaCl_2$ W/Ö
„ 1% + 2,5% „ + 0,050% „ „ Ringerlös. W/Ö

Eine weitere wichtige Rolle für die Stärke sowohl als die Wirkungsrichtungen eines Emulsators spielen die gegenseitigen Mengenverhältnisse der wässerigen und öligen Phase. Na-Oleat in einer Ringerlösung, die 1—5% Neutralfett enthält, wirkte als Öl-Wasser-Emulsator. Steigt aber die Menge der Fettphase an, so daß, wie in der vorliegenden Versuchsanordnung, von vornherein gleiche Fett- und Wassermengen in der Reaktion anwesend sind, so funktioniert das % iges Na-Oleat in der Ringerlösung als Wasser-Ölemulsator, wobei die Wirkung allerdings durch sehr geringe Eiweiß- oder Lecithinzusätze aufgehoben werden kann.

Es waren nun in der vorliegenden Versuchsanordnung noch Lecithin und Cholesterin als Antagonisten gegeneinander auszuspielen.

Menge des Cholesterins in %	Menge des Lecithins in Prozent								
	1,2	1,1	1,0	0,9	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4
1%	Ö/W	Ö/W	KP	W/Ö	+ 0,05 Albumin W/Ö	W/Ö	Ö/W	Ö W	Ö/W

Menge des Cholesterinester in %	Menge des Lecithins in Prozent										
	1,2	1,1	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2
1% Cholesterin-Oleat	Ö/W	Ö/W	Ö/W	Ö W	Ö/W	Ö/W	Ö/W	Ö/W	KP	W/Ö	W/Ö

Werden Lecithin und Cholesterin in der beschriebenen Weise als Antagonisten für die Aufteilung von Fett und Wasser gegeneinander ausgespielt, so entstehen solange Öl-Wasser-Emulsionen, als auf 1 Teil Cholesterin mindestens 1 Teil Lecithin trifft. Der kritische Punkt liegt bei einer Mengenverteilung von 0,9 Teilen Lecithin auf 1 Teil Cholesterin. Verändert sich dieses Zahlenverhältnis zu Ungunsten des Lecithins, so treten Wasser-Öl-Emulsionen auf. Eine Sensibilisierung des Lecithins durch sehr geringe Mengen von Albumin nach dem Muster der oben beschriebenen Sensibilisierung des Albumins durch kleine Lecithinmengen, die das Wasser-Öl-Vermögen des Cholesterins enorm steigerte, konnte nur in unmittelbarer Nähe des kritischen Punktes und nur bei freiem Cholesterin beobachtet werden.

Zusammenfassung.

Die Befunde von *Spranger,* daß in Elektrolytlösungen von der Konzentration und Art, wie sie in natürlicher Weise in Frage kommen, die Größenreihe der physiologisch in Betracht kommenden O/W-Emulgatoren Lecithin > Albumin > Na-Oleat lautet, wurde mit einer neuen Methode (Homogenisieren, Bestimmung des mittleren Teilchendurchmessers und des Umfangs der entstehenden Grenzfläche) bestätigt.

Mit der gleichen Methode wurde entgegen *Sprangers* ursprünglichem Befund festgestellt, daß freies Cholesterin ein besserer W/O-Emulgator ist als verestertes. Der gleiche Befund wurde mit der oben beschriebenen Mörsermethode bestätigt.

Wurden O/W- und W/O-Emulgatoren gegeneinander ausgespielt, so zeigte sich, daß die Wirkungsstärke der einzelnen Kolloide auf die Verteilung von Fett und Wasser ineinander von den Mengenverhältnissen der wässerig-öligen Phase abhängt und daß bei bestimmten Mengenverhältnissen und Kolloidkombinationen sich die

Emulgator-Richtung mancher Kolloide (der Sterine) sogar umdrehen kann. Als Hauptbefund ergab sich, daß die Wirkung von Cholesterin und Lecithin sensibilisierend auf den Neutralfett- und Eiweißkomplex in dem Sinne wirkt, daß bei natürlichen gegenseitigen Mengenverhältnissen Phasenumkehrungen vor allem durch die Wirkungen der beiden Lipoide Cholesterin und Lecithin hervorgerufen werden.

Mit aufrichtigem Dank für die Anregung zu dieser Arbeit von Seiten des Herrn Professors Dr. Degkwitz schließe ich dieselbe.

Literaturverzeichnis.

1. Monatsschrift für Kinderheilkunde Bd. 29.
   Inaugural-Dissertation Greifswald 1928.
   Zeitschrift für Kinderheilkunde Bd. 44.
   Biochemische Zeitschrift Bd. 190 Heft 4—6.
2. Handbuch der Biochemie, Oppenheimer 1925: Aaron und Sralka, L. Pincussen, Fürth, Wohlgemut.
3. Biochemische Zeitschrift Bd. 208.
4. Ergebnisse der Physiologie Bd. 32: Degkwitz, Lipoid-Antagonismen.
5. Klinische Wochenschrift 1924 Nr. 35: Degkwitz und Zoelch
6. I. physic. chem. 20 (1916): Clowes.

Lebenslauf.

Am 23. November 1894 wurde ich als Sohn des Sanitätsrat Dr. med. Theodor Fernbacher und seiner Ehefrau Annie Houghton geb. Rimmer in Freital-Zauckerode bei Dresden geboren. Die Schulausbildung beendete ich im Frühjahr 1916 mit dem Abiturium am Annen-Realgymnasium in Dresden.

Anschließend begann ich mit dem Studium der Medizin in München, trat aber Frühjahr 1917 dort in das Rote Kreuz und war in Kriegslazaretten im Westen tätig. Herbst 1919 bestand ich in Freiburg i. Br. das Physikum. Während des Studiums in Tübingen verschied mein Vater, weswegen ich einige Zeit das Studium unterbrechen mußte. In Rostock und Greifswald beendete ich dasselbe und bestand im Juli 1930 das medizinische Staatsexamen in Greifswald.

Vom 1. September 1930 bis 1. Februar 1931 war ich als Medizinalpraktikant an der Universitätskinderklinik zu Greifswald und führte in dieser Zeit die Versuche zu dieser Arbeit aus. Anschließend war ich an der chirurgisch-gynäkologischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Ratibor tätig. Vom 1. Juni bis 1. September 1931 beendete ich das Praktikantenjahr am Krankenhaus vom Roten Kreuz in Braunschweig.

Am 1. September 1931 erhielt ich die Approbation.